

소(牛) 심근 미토콘드리아의 ATPase와 porin의 분포

김 태 근, 민 병 훈^{1,*}, 김 수 진*

한림대학교 자연과학대학 생명과학과,
¹고려대학교 의과대학 기생충학교실 및 여행의학연구소

The Distribution of ATPase and Porin in the Bovine Heart Mitochondrial Cristae

Tae-Keun Kim, Byoung-Hoon Min^{1,*}, Soo-Jin Kim*

Department of Life Science, College of Natural Science, Hallym University, Chuncheon 200-702, Korea

¹Department of Parasitology, Korea University College of Medicine and Institute of Travel Medicine
Korea University, Seoul 136-705, Korea

(Received December 7, 2010; Revised December 21, 2010; Accepted December 22, 2010)

ABSTRACT

ATP is the energy source synthesized at the electron transferase that consist of complex I, II, III, IV and V in mitochondrial cristae. The complex V functions as ATPase which composed of sub-complex F₀ and F₁. Porin or VDAC (voltage-dependent anion-selective channel), is a family of small pore-forming proteins of the mitochondrial outer membrane, and play important roles in the regulated flux of anion, proton and metabolites between the cytosolic and mitochondrial compartments. The channel allows the diffusion of negatively charged solutes such as succinate, malate, and ATP in the fully open state, but of positively charged ions in subconducting state.

In this study, in order to investigate the relationship of the function and localization between porin and ATPase we observed the distribution of porin and ATPase in the mitochondria of the bovine heart. Monoclonal antibodies against porin and ATPase β -subunit were used to detect porin and ATPase using light microscope with immunohistochemistry and immunofluorescence, and using electron microscope with immunogold-labeling. ATPase were stained in longitudinal section region in cardiac muscle, porin were stained in longitudinal section region in cardiac muscle. We viewed more specific pattern of localization and distribution of these proteins using immunofluorescence method. There were some region which were labeled with porin or ATPase respectively, and others which were labeled both proteins in cardiac muscle. The electron microscope results showed that immunogold labeled porin were labeled locally at mitochondrial outer membrane and ATPase were labeled evenly at mitochondrial cristae. But ATPase was not labeled at mitochondria cristae.

These results confirmed the subcellular localizations of porin and ATPase in mitochondrial outer membrane and cristae. Also, we assumed that ATP synthesis always does not activation in all mitochondria exist in the bovine cardiac muscle.

Keywords : Porin, ATPase, Bovine heart, Mitochondria, Immunogold-labeling

* Correspondence should be addressed to Prof. Soo-Jin Kim, Department of Life Science, College of Natural Science, Hallym University, Chuncheon 200-702, Korea. Ph.: (033) 248-2091, Fax: (033) 256-3420, E-mail: sjkim@hallym.ac.kr or Dr. Byoung-Hoon Min, Department of Parasitology, Korea University College of Medicine, Seoul 136-705, Korea. Ph.: (02) 920-6352, Fax: (02) 924-4905, E-mail: hoonie@korea.ac.kr

서 론

미토콘드리아는 생체 내에서 필요한 에너지원인 ATP를 생성하는 세포소기관으로 분포하고 있는 조직의 ATP요구량에 의해서 다양한 형태로 나타나는 것으로 알려져 있다 (Alberts et al., 2002). 미토콘드리아는 바깥막(outer membrane), 속막(inner membrane, cristae), 바탕질(matrix)로 구성되며, 외막과 내막 사이에는 막사이 공간(intermembrane space)이 존재 한다. 기질과 막간공간은 서로 다른 수소 이온농도를 가지고 있으며, 이러한 수소이온 농도차이는 ADP와 인산기를 결합시키게 하여 ATP를 생성한다(Noji et al., 2001; Capaldi et al., 2002; Senior et al., 2002). 미토콘드리아는 독자적인 DNA인 mtDNA가 존재하여, 미토콘드리아 자체의 DNA복제, 분열, 이동이 가능하다. 또한 ATP를 많이 사용하는 활성도가 높은 세포에서는 요구량에 따른 미토콘드리아 수의 증가가 나타난다. 즉, ATP의 요구량이 많은 심장근, 골격근과 같은 근육조직과 간의 경우 다른 조직에 비해 많은 수의 미토콘드리아가 존재한다(Collinson et al., 1994).

ATP 생성은 미토콘드리아 내막의 전자전달계에서 이루어지며, 전자전달계에는 효소로 구성된 복합체 I(ubiquinone reductase complex), 복합체 II(ubiquinone complex), 복합체 III(cytochrome b-c₁ complex), 복합체 IV(cytochrome-c-oxidase complex), 복합체 V(ATPase)가 존재한다(Marin-Garcia & Goldenthal, 2005). 또한 바깥막에는 porin 또는 VDAC(voltage-dependent anion-selective channel) 등의 막 단백질이 존재하며(Colombini, 1979; Konstantinova et al., 1995), porin-channel에 의해 통과된 음이온(Cesar & Wilson, 2004) 및 전자들이 전자전달계 효소로 전달된다(Fiek et al., 1982; Benz, 1985; Graham & Craigen, 2005). Porin은 효모(Mihara & Sato, 1985), 동물(Linden et al., 1982; De Pinto et al., 1989), 식물(Heins et al., 1994; Abrecht et al., 2000)에 이르는 대부분의 진핵생물에서 발견되었다. 또한 porin은 미토콘드리아의 바깥막에 미세한 구멍 형태로 분포하며(Schein et al., 1976; Dihanich et al., 1989), 전압에 의존하는 단백질로 알려져 있다(Colombini, 1989).

ATPase는 흔히 F₀-F₁ ATPase로 알려져 있으며 여러 개의 소단위로 구성되어 있다(Abrahams et al., 1994; Dickson et al., 2006). F₀ 복합체는 속막 속에 위치하고 있으며, F₁ 복합체는 구형으로 바탕질 쪽으로 돌출되어 ATPase를 구성한다. F₀부분은 전자를 이동시키며, F₁부분은 촉매작용을 하는 것으로 보고되었다(Walker, 1998). ATPase는 ADP와 인산기를 결합시켜 ATP를 합성하는 작용을 하며, 이 과정은 전기화학적 에너지가 기계적 에너지로 전환되는 수소이온의 기울기에서 화학적 에너지(ATP)로 환원되는 것으로 알려져 있다(Stock et al., 2000; Noji et al., 2001; Capaldi et al., 2002;

Senior et al., 2002; Weber et al., 2003).

이와 같이 ATPase에 의하여 생성된 ATP는 전압 의존적 특성에 의해 물질을 선택적으로 투과시키는 채널인 porin을 통해 선택적으로 세포질로 방출된다. 그러나 porin과 ATPase가 동시에 활성화되어 ATP가 세포질로 방출되는 기작을 갖고 있는지, 혹은 porin이 활성화된 후, 운반된 이온을 사용하여 ATPase가 활성화되고, 생성된 ATP가 다시 porin을 통하여 세포질로 수송되는지에 대한 기능적 분포에 대한 연구나 모든 미토콘드리아에서 ATP가 생성되는지에 대한 연구는 미흡하였다.

따라서 본 연구에서는 소(牛)의 심근에 존재하고 있는 porin과 ATPase의 분포를 광학현미경을 이용한 면역반응법과 투과전자현미경을 이용한 면역황금표지법을 사용하여 비교 확인하고, 형광현미경을 이용한 이중면역반응법으로 porin과 ATPase의 분포양상을 확인하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

본 실험에서 한국 소(*Bos taurus coreanae*)를 사용하였으며, 홍천에 위치하고 있는 도축장에서 일주일에 두 번씩 5주 동안 10개의 심근 조직을 제공받았다.

심근에 분포하는 porin과 ATPase를 확인하고자 mouse anti-Porin 31HL (Ab2) mAb (Calbiochem, USA)와 mouse anti-Complex V subunit beta mAb (Mitoscience, USA)를 일차항체로 사용하였다. 전자현미경인 관찰을 위해 10 nm Goat anti-mouse IgG+IgM gold particle (Sigma, USA), 형광현미경 관찰을 위해 Alexa Fluor 488 goat anti-mouse IgG_{2a}와 Alexa Fluor 594 goat anti-mouse IgG_{2b}를 이차항체로 사용하였다.

2. 방 법

광학현미경 관찰을 위해 적출된 심근은 4% paraformaldehyde 고정액(pH 7.4)에 2시간 고정하였다. 고정된 심근을 ethanol 탈수 후 xylene으로 치환하고, paraffin 처리하여 포매하였다. 포매된 조직은 microtome으로 5 μm 절편을 제작하였다. 제작한 슬라이드는 Porin과 ATPase에 대응하는 일차항체를 반응시켰다. 현미경 관찰을 위하여 Envision⁺ kit (DAKO, USA)을 사용하여 DAB 발색을 시행하고, hematoxylin으로 대비염색을 수행하였다. 염색된 슬라이드는 광학현미경(Zeiss Axioscope, Germany)으로 관찰하고, 디지털 카메라(Zeiss Axiocam, Germany)로 촬영하였다.

형광현미경 관찰을 위해 제작한 슬라이드는 Porin과 ATPase에 대응하는 일차항체를 반응시키고 이차 항체는 FITC와 Texas Red를 이용하고, DAPI로 핵을 대비염색 하

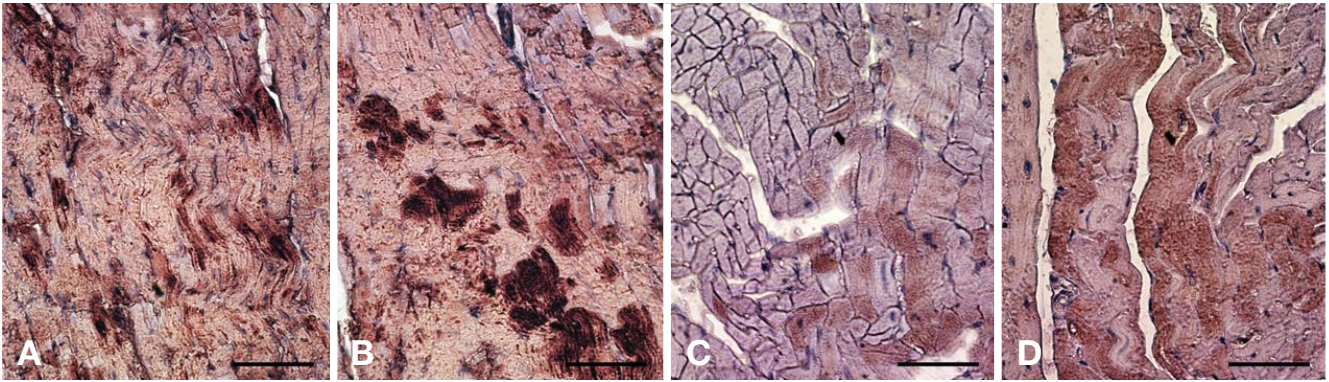


Fig. 1. Light microscopical observation of the bovine cardiac muscle. The cardiac muscle stained with porin (A, B) and ATPase (C, D). Porin protein exist region that entire colorized to brown. ATPase exist region that partially colorized to brown. Scale Bar=100 μ m.

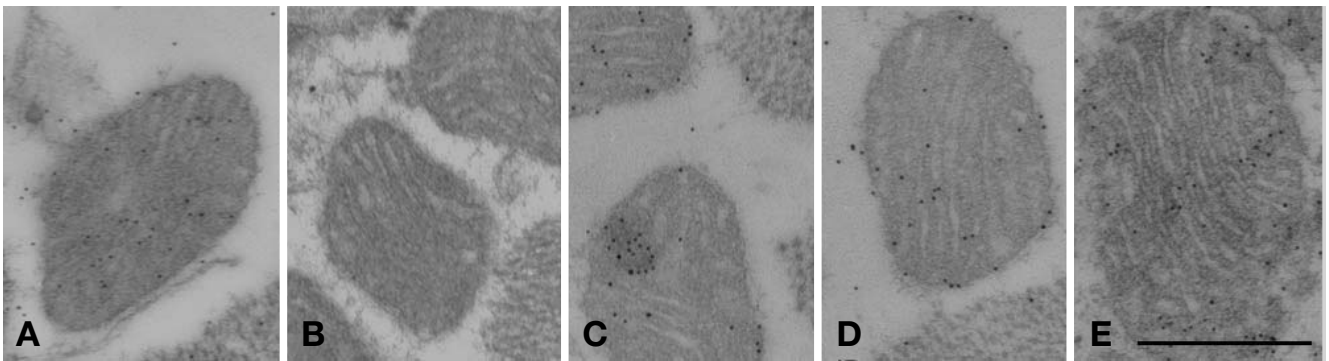


Fig. 2. Transmission Electron Microscopical observation of the bovine cardiac muscle. Gold particle was labeled with ATPase which was equally distribution on the mitochondrial inner membrane (A). Gold particle was not labeled with ATPase (B). Gold particle was labeled with porin which was distribution on the mitochondria. The distribution type of porin in the mitochondria (C, D, E). Scale Bar=1 μ m.

였다. 염색된 슬라이드는 형광현미경 (Leica DM2000, Germany)으로 관찰하고, 디지털 카메라 (Leica DFC360FX, Germany)로 촬영하였다.

전자현미경 관찰을 위한 심근을 1% paraformaldehyde-1% glutaraldehyde와 2% osmium tetroxide로 고정하고, ethanol 탈수 후 Lowicryl HM 20을 이용하여 포매하였다. 포매된 조직은 60nm 초박절편을 제작하여 면역황금표지법의 조직 항원으로 사용하였다. 제작된 초박절편은 Porin과 ATPase에 대응하는 일차항체를 반응시키고, 이차 항체로 10nm gold particle을 사용하였다. 처리된 재료는 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 EM109 전자현미경 (Zeiss, Germany)으로 관찰하였다.

결 과

면역조직화학법을 이용하여 심근에서 porin의 분포양상을 확인해 본 결과 조직 대부분에서 반응이 나타났으며, 일부

지역에서 뚜렷이 대비되는 짙은 발색이 관찰되었다. 각각의 슬라이드에는 심근조직의 가로면과 세로면이 모두 관찰되며, 심근의 종단면이 주로 분포하는 곳의 세포에서 porin에 대한 발색이 뚜렷하게 나타났다 (Fig. 1A, B). ATPase 항체를 반응시킨 경우 조직 전체에서 반응이 이루어지지 않고 일부 세포에서 분포가 확인되었다 (Fig. 1C, D).

면역황금표지법을 이용하여 전자현미경으로 관찰한 우 (牛)심근 미토콘드리아에서 ATPase (Fig. 2A, B)와 porin (Fig. 2C, D, E)의 분포가 확인되었다. ATPase의 경우 황금 입자가 표지되어 있는 미토콘드리아 (Fig. 2A)와 황금입자가 표지되지 않은 미토콘드리아 (Fig. 2B)가 관찰되었다. Porin은 주로 미토콘드리아의 바깥막에 황금입자가 분포하고 있었으나, 속막에서도 황금입자의 표지가 관찰되었다. 그러나 미토콘드리아마다 표지된 황금입자의 수는 차이를 보였다 (Fig. 2C, D, E).

형광현미경 관찰을 위한 이중면역반응법을 이용하여 심근에 존재하는 porin과 ATPase의 분포를 확인하였다 (Fig. 3A, B, C). Porin은 Texas red를 이용하여 표지하였고 (Fig.

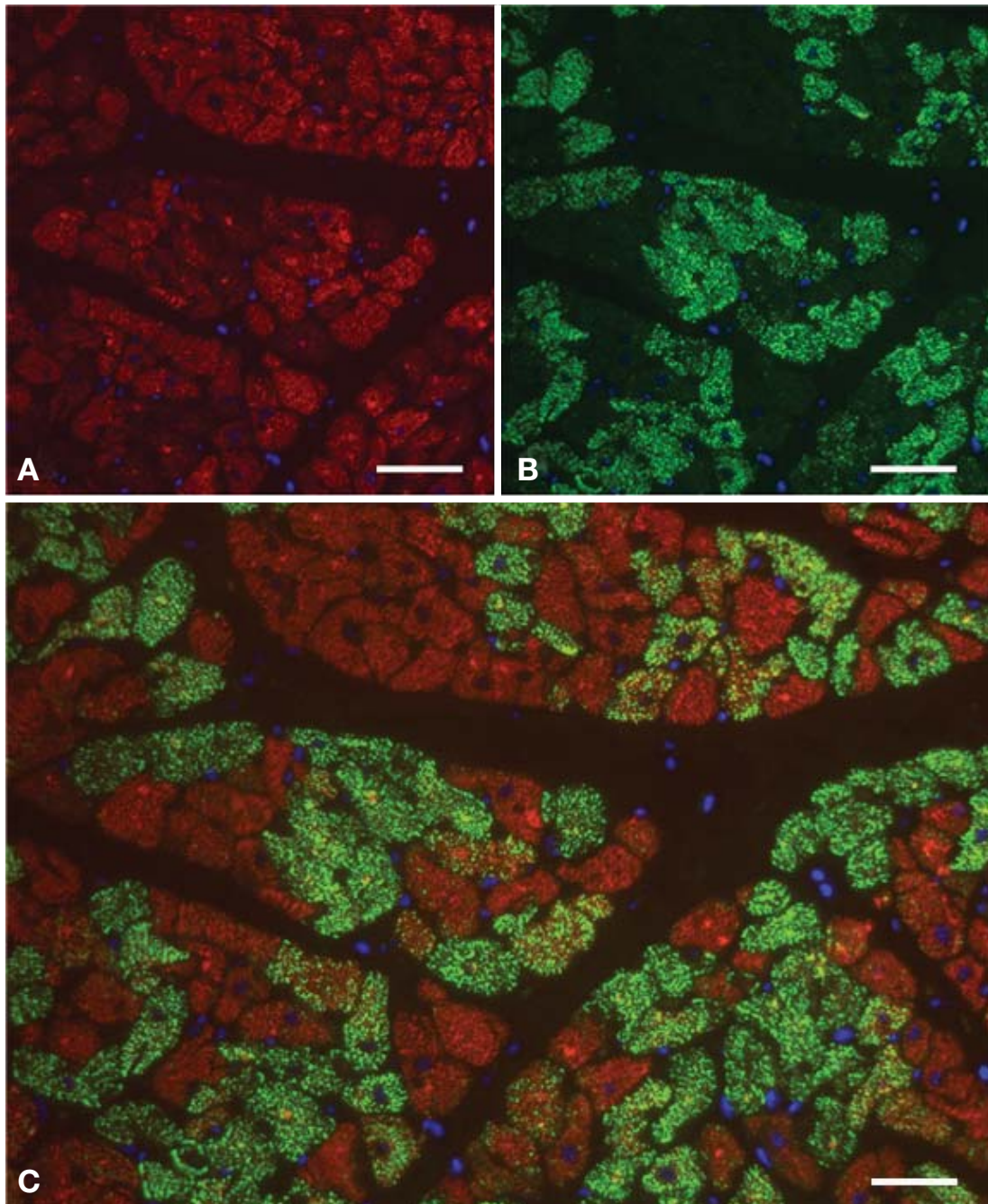


Fig. 3. Fluorescence microscopical observation of the bovine cardiac muscle. Red is porin (3A). Green is ATPase (3B). Merged images (3C). Scale Bar=100 μ m.

3A), ATPase는 FITC를 이용하여 실험하였다(Fig. 3B). 각 항체의 분포를 병합하여 관찰한 결과 porin만 표지된 세포와 ATPase만 표지된 세포들이 관찰되었으며, porin과 ATPase가 같이 분포하는 심근조직의 세포도 관찰할 수 있었다. 그러나 ATPase와 porin이 동시에 표지된 세포보다 ATPase와 porin이 각각 분포되어있는 세포가 더 많이 관찰되었다(Fig. 3C).

고 찰

미토콘드리아는 생체 내에서 필요한 에너지원인 ATP를 생성하며, 미토콘드리아의 수는 미토콘드리아가 분포하고 있는 곳의 ATP의 요구량에 의해서 미토콘드리아 자가융합, 분열 또는 이동하기도 하며, 세포활성에너지가 필요한 조직 또는 세포에 ATP를 공급하는 세포소기관이다(Stock et al.,

2000; Capaldi et al., 2002; Weber et al., 2003). ATP는 미토콘드리아의 속막에 존재하고 있는 전자전달계 효소(electron transferase)에 의해 생성된다. 속막의 전자전달계 효소는 복합체 I, II, III, IV, V로 구성되며(Marin-Garcia & Goldenthal, 2005), 바깥막에 존재하는 porin 또는 VDAC (voltage-dependent anion-selective channel) 등의 막 단백질이 음전하 용질 또는 전자를 선택적으로 유입 또는 방출시키는 역할을 수행한다(Colombini, 1979; Konstantinova et al., 1995). 따라서 porin에 의해 유입된 음이온 및 전자들이 전자전달계 효소로 전달되고 복합체 V라고 알려져 있는 F_0 - F_1 ATPase에 의해 미토콘드리아에서 ATP가 생성되는 것으로 알려져 있다(Stock et al., 2000; Noji et al., 2001; Capaldi et al., 2002; Senior et al., 2002; Weber et al., 2003).

본 실험에서는 심근의 미토콘드리아에 존재하고 있는 porin과 ATPase의 분포를 관찰하였다. ATPase의 경우 F_0 - F_1 소복합체로 구성되어 있고, F_0 소복합체는 내막에 묻혀서 존재하기 때문에 기질 쪽으로 돌출되어 있어야 하며, 이러한 ATPase를 표지하기 위하여 F_1 소복합체의 소단위인 β -단클론항체를 사용하여 황금입자를 표지하였다.

광학현미경 관찰 결과 모든 조직의 종단면에서 porin과 ATPase의 반응이 관찰되며, 각각의 세포에서 발색이 이루어지는 부분은 일반적으로 알려진 핵 주변 뿐만 아니라 심근 세포 전체에 고루 발색이 이루어졌다. 일반적인 세포의 경우 세포 물질대사를 위한 ATP 요구량에 의해 핵 주위에 미토콘드리아가 많이 분포하게 되지만, 심근의 경우 일반적인 세포 대사과정 뿐만 아니라 근섬유의 주변에서도 ATP 요구량이 크기 때문에 porin과 ATPase의 발색이 나타난 것으로 추측된다.

Porin은 채널이 열린 상태에서 succinate, malate, ATP와 같은 음전하용질, 이온 또는 전자의 유입이 가능해지는 것으로 알려져 있다(Rostovtseva & Colombini, 1996). 이번 연구에서 porin은 거의 모든 조직에 분포하지만, ATPase는 모든 심근조직에서 발색이 관찰되지는 않았다. 또한, 면역황금 표지법을 이용한 투과전자현미경 관찰 결과 porin은 미토콘드리아의 바깥막에 황금입자가 표지되고, ATPase는 미토콘드리아의 속막에 골고루 황금입자가 표지된 것과 황금입자가 표지되지 않는 경우도 있었다. 이러한 결과로 보아 모든 미토콘드리아에서 동시에 ATP를 생성하는 것은 아니라는 것을 추측해 볼 수 있다. 따라서 미토콘드리아에 존재하고 있는 porin과 ATPase를 동시에 같은 조직 내에서 표지할 수 있는 실험인 이중면역반응법을 사용하여 두 가지 항체를 표지하여 관찰하였다.

심근조직에 존재하고 있는 porin과 ATPase를 형광표지하여 관찰한 결과 porin과 ATPase가 각각 분포하고 있는 경우와 porin과 ATPase가 동시에 분포하고 있는 심근세포도 관찰되었다. 그러나 porin과 ATPase가 동시에 분포하고 있는

경우보다 한 가지만 존재하는 심근세포가 더 많았으며, 특히 porin과 ATPase 중 porin의 분포가 더 많았다. 이러한 결과 역시 porin 항체의 발색으로 미토콘드리아가 존재하고 있다는 것으로 보이며, ATPase 항체의 발색으로 ATP를 생성하고 있는 미토콘드리아를 확인할 수 있었다. 또한 ATPase 항체가 반응이 이루어지지 않고 porin 항체만 반응된 세포의 경우에는 ATP를 생성하지 않는 휴지기 미토콘드리아를 가지고 있는 세포로 추측된다.

이상의 결과로 심근에서 미토콘드리아의 porin과 ATPase의 분포 여부를 면역조직화학법, 황금입자를 이용한 전자현미경법 그리고 형광현미경 관찰을 통해 확인할 수 있었다. 그 결과 심근에 있는 미토콘드리아의 바깥막에는 porin이, 속막에는 ATPase가 존재하고 있음을 확인할 수 있었으며, 두 단백질이 심근조직에 같이 존재하고는 있지만 각 단백질의 분포는 다르게 나타나는 것을 확인할 수 있었다. 따라서 porin과 ATPase가 동시에 표지된 조직에서는 ATPase에서 생성된 ATP가 porin의 채널을 통해 세포질로 수송이 일어나기 때문에 같은 조직에서 동시에 표지된 것으로 보인다. 또한 두 단백질이 조직 내에서 동시에 표지되지 않고 porin만 표지된 경우는 채널을 통해 이미 ATPase에서 생성된 ATP, succinate, malate 등의 음전하용질과 이온의 수송을 위한 활성이 나타나고 있는 것으로 생각된다.

따라서 심근조직에서 각각의 항체의 분포가 세포마다 다르게 관찰되는 이유는, 조직에 포함되어 있는 많은 세포들이 모두 ATP 합성을 위한 활성이 나타나는 것이 아니고, ATPase의 활성이 나타나지 않는 휴지기 미토콘드리아를 포함하는 세포와 ATPase가 활성화되어 있는 세포로 구성되어 있는 것으로 추측된다. 이러한 구성은 심근의 운동과 같이 에너지 대사과정에 필요한 ATP 공급을 위해 조직에 포함된 모든 세포에 존재하는 미토콘드리아가 동시에 ATP를 생성과정이 활성화되지 않는 것으로 추측된다.

참 고 문 헌

- Abrahams JP, Leslie AGW, Lutter R, Walker JE: Structure at 2.8Å resolution of F_1 -ATPase from bovine heart mitochondria. *Nature* 370 : 621-628, 1994.
- Abrecht H, Wattiez R, Ruyschaert JM, Homble F: Purification and characterization of two voltage-dependent anion channel isoforms from plant seeds. *Plant Physiol* 124 : 1181-1190, 2000.
- Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P: *Molecular biology of the cell*. Garland, New York, pp. 447-458, 2002.
- Benz R: Porin from bacterial and mitochondrial outer membranes. *CRC Crit Rev Biochem* 19(2) : 145-190, 1985.
- Capaldi RA, Aggeler R: Mechanism of the F_1F_0 -type ATP synthase, a biological rotary motor. *Trends Biochem Sci* 27 : 154-160, 2002.

- Cesar Mde C, Wilson JE: All three isoforms of the voltage-dependent anion channel (VDAC1, VDAC2, and VDAC3) are present in mitochondria from bovine, rabbit, and rat brain. *Arch Biochem Biophys* 422(2) : 191-196, 2004.
- Collinson IR, Fearnley IM, Skehel JM, Runswick MJ, Walker JE: ATP synthase from bovine heart mitochondria: identification by proteolysis of sites in F₀ exposed by removal of F₁ and the oligomycin-sensitivity conferral protein. *Biochem J* 303(Pt 2) : 639-645, 1994.
- Colombini M: A candidate for the permeability pathway of the outer mitochondrial membrane. *Nature* 279(5714) : 643-645, 1979.
- Colombini M: Voltage gating in the mitochondrial channel, VDAC. *J Membr Biol* 111 : 103-111, 1989.
- De Pinto V, Benz R, Caggese C, Palmieri F: Characterization of the mitochondrial porin from *Drosophila melanogaster*. *Biochim Biophys Acta* 987(1) : 1-7, 1989.
- Dickson VK, Silvester JA, Fearnley IM, Leslie AGW, Walker JE: On the structure of the stator of the mitochondrial ATP synthase. *The EMBO Journal* 25 : 2911-2918, 2006.
- Dihanich M, Schmid A, Oppliger W, Benz R: Identification of a new pore in the mitochondrial outer membrane of a porin-deficient yeast mutant. *Eur J Biochem* 181(3) : 703-708, 1989.
- Fiek C, Benz R, Roos N, Brdiczka D: Evidence for identity between the hexokinase-binding protein and the mitochondrial porin in the outer membrane of rat liver mitochondria. *Biochim Biophys Acta* 688 : 429-440, 1982.
- Graham BH, Craigen WJ: Mitochondrial voltage-dependent anion channel gene family in *Drosophila melanogaster*: Complex patterns of evolution, genomic organization, and developmental expression. *Mol Genet Metab* 85(4) : 308-317, 2005.
- Heins L, Mentzel H, Schmid A, Benz R, Schmitz UK: Biochemical, molecular, and functional characterization of porin isoforms from potato mitochondria. *J Biol Chem* 269(42) : 26402-26410, 1994.
- Konstantinova SA, Manneila CA, Skulachev VP, Zorov DB: Immunoelectron microscopic study of the distribution of porin on outer membranes of rat heart mitochondria. *J Bioenerg Biomembr* 27(1) : 93-99, 1995.
- Linden M, Gellerfors P, Nelson BD: Purification of a protein having pore forming activity from the rat liver mitochondrial outer membrane. *Biochem J* 208 : 77-82, 1982.
- Marin-Garcia J, Goldenthal MJ: Mitochondria and the heart. Springer, New Jersey, pp. 27-45, 2005.
- Mihara K, Sato R: Molecular cloning and sequencing of cDNA for yeast porin, an outer mitochondrial membrane protein: a search for targeting signal in the primary structure. *EMBO J* 4(3) : 769-774, 1985.
- Noji H, Yoshida M: The rotary machine in the cell, ATP synthase. *J Biol Chem* 276 : 1665-1668, 2001.
- Rostovtseva T, Colombini M: VDAC channels mediate and gate the flow of ATP: implications for the regulation of mitochondrial function. *Biophys J* May 72(5) : 1954-1962, 1997.
- Schein SJ, Colombini M, Finkelstein A: Reconstitution in planar lipid bilayers of a voltage-dependent anion-selective channel obtained from paramecium mitochondria. *J Membr Biol* 30(2) : 99-120, 1976.
- Senior AE, Nadanaciva S, Weber J: The molecular mechanism of ATP synthesis by F₁F₀-ATP synthase. *Biochim Biophys Acta* 1553 : 188-211, 2002.
- Stock D, Gibbons C, Arechaga I, Leslie AGW, Walker JE: The rotary mechanism of ATP synthase. *Curr Opin Struct Biol* 10 : 672-679, 2000.
- Walker JE: ATP synthesis by rotary catalysis (Nobel Lecture). *Angew Chem Int Edn Engl* 37 : 2309-2319, 1998.
- Weber J, Senior AE: ATP synthesis driven by proton transport in F₁F₀-ATP synthase. *FEBS Lett* 545 : 61-70, 2003.

< 국문초록 >

미토콘드리아에서 생성하는 ATP는 미토콘드리아의 속막에 존재하는 전자전달계 효소(electron transferase)에 의해 생성되며, 이러한 전자전달계 효소는 복합체 I, II, III, IV, V로 구성되어 있다고 알려져 있다. ATP는 ATPase에 의해 생성되며, ATPase는 F₀와 F₁ 소복합체로 구성되어 있다. 미토콘드리아의 외막에는 Porin 또는 VDAC (voltage-dependent anion-selective channel)이라고 알려져 있는 미세한 구멍 형태의 단백질이 존재하며, 세포질에 존재하는 succinate, malate, ATP와 같은 음전하용질 또는 전자를 선택적으로 통과시키는 역할을 수행하는 것으로 보고된 바 있다.

본 연구에서는 소의 심근 미토콘드리아에 존재하고 있는 porin과 ATPase의 기능과 분포의 관계를 알아보기 위하여, porin과 ATPase V-β 항체를 면역반응법을 이용한 광학현미경과 이중면역반응법을 이용한 형광현미경으로 확인하고, 심근 미토콘드리아의 두 단백질 분포를 면역황금표지법을 이용한 전자현미경으로 관찰하였다. 미토콘드리아에서 porin 항체에 대한 미토콘드리아 조직항원의 발색은 조직내에서 전반적으로 관찰할 수 있었으며, ATPase 항체에 대한 조직항원의 발색은 세포면에서 관찰되었다. 이중면역응법에서 porin 항체와 ATPase는 각각 다른 조직에서 발색이 관찰되거나, 같은 조직 내에서 관찰되었다. 면역황금표지법에서 porin 항체는 미토콘드리아의 바깥막에서 황금입자가 표지된 것을 확인할 수 있었으며, ATPase는 미토콘드리아의 속막에서 황금입자가 표지된 것을 확인할 수 있었다. 그러나 ATPase 항체가 황금입자로 표지되지 않은 미토콘드리아도 확인되었다.

이러한 결과로 porin 항체와 ATPase 항체는 미토콘드리아의 바깥막과 속막에 각각 분포양상을 확인하였다. porin 항체의 발색으로 인한 조직 내의 미토콘드리아가 존재하고 있음을 확인할 수 있었으며, ATPase 항체의 발색으로 인한 ATP를 생성하는 미토콘드리아를 확인할 수 있었다. 하지만 porin 항체의 반응으로 확인된 미토콘드리아가 반드시 ATP를 생성하는 것은 아니라는 것을 추측할 수 있었다.